



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 0184.4—2010

食品中李斯特氏菌检测 第4部分:胶体金法

Detection of *Listeria* in foods—
Part 4: Colloidal gold immunochromatographic method

2010-05-27 发布

2010-12-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

SN/T 0184《食品中李斯特氏菌检测》分为四部分：

—第 1 部分：进出口食品中单核细胞增生李斯特氏菌检验方法；

—第 2 部分：多重 PCR 方法；

—第 3 部分：免疫磁珠法；

—第 4 部分：胶体金法。

本部分为 SN/T 0184 的第 4 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本部分主要起草单位：中华人民共和国辽宁出入境检验检疫局。

本部分主要起草人：王秋艳、曹际娟、赵昕、郑秋月、王刚、徐杨、徐君怡。

食品中李斯特氏菌检测

第4部分:胶体金法

1 范围

SN/T 0184 的本部分规定了食品中李斯特氏菌的胶体金检测方法。
本部分适用于进出口食品中李斯特氏菌的快速筛选检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件,凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

SN/T 0184.1 进出口食品中单核细胞增生李斯特氏菌检测方法

3 原理

本标准采用胶体金免疫分析技术,将氯金酸用还原法制成一定直径的金溶胶颗粒,标记李斯特氏菌抗体。以硝酸纤维素膜为载体,膜上含有被事先固定于膜上检测带(T)的抗李斯特氏菌的抗体和质控带(C)的抗体。检测时,将处理好的样品加到试纸条的加样孔中,样品在毛细作用下向试纸条的另一端移动,此过程中样品中李斯特氏菌先与胶体金形成复合物,再与固定在膜上的抗体特异性结合,并被其截获而显现红色。

4 试剂和材料

除另有规定外,所有化学试剂均为分析纯,水应符合 GB/T 6682 要求。

4.1 Fraser 肉汤增菌液(FB₁,FB₂);见附录 A。

4.2 Reveal 李斯特氏菌胶体金免疫层析快速检测试纸条¹⁾。

5 仪器和设备

5.1 恒温培养箱:30℃±1℃、24℃±1℃、35℃±1℃。

5.2 均质器。

5.3 天平:感量 0.1 g。

5.4 高压灭菌锅。

5.5 灭菌吸管、灭菌平皿、灭菌试管。

1) 给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效产品。

5.6 冰箱:2℃~5℃、-15℃。

6 检验程序

胶体金法检测李斯特氏菌程序如图1所示。

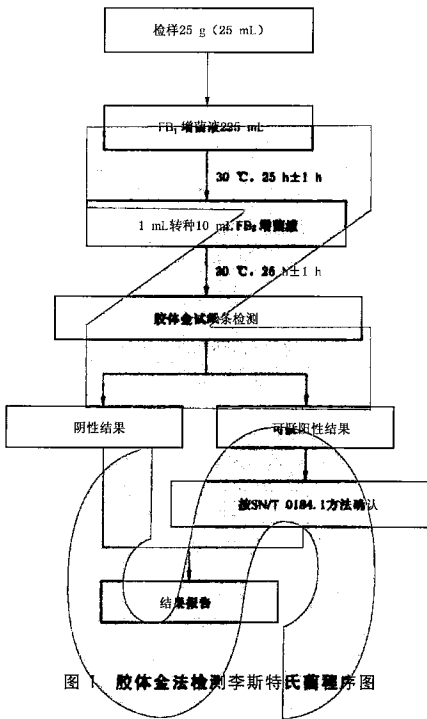


图1 胶体金法检测李斯特氏菌程序图

7 检样步骤

7.1 样品的存放与制备

7.1.1 样品存放

如为冷冻样品,应于2℃~5℃解冻,且不超过18h;若不能及时检验,应置于-15℃保存。非冷冻的易腐样品应尽可能及时检验,若不能及时检验,应置于4℃冰箱保存,在24h之内检验。

7.1.2 样品制备

无菌称取样品25g(25mL)放入灭菌均质杯或均质袋中加225mL FB₁ 增菌液,充分均质。

7.2 增菌培养

FB₁ 增菌液 225 mL 放 30 °C ± 1 °C 培养 25 h ± 1 h, 吸取 1 mL 加入到 10 mL FB₂ 增菌液中放 30 °C ± 1 °C 二次增菌 25 h ± 1 h。

7.3 胶体金试纸条快速检测

取 FB₂ 增菌液 100 μL, 加入到胶体金试纸条的加样孔中, 10 min ~ 20 min 判定结果。

8 质量控制

实验中以单增李斯特氏菌作为阳性对照, 以大肠杆菌等非李斯特氏菌作为阴性对照, 以水作为空白对照。

9 结果分析与判定

9.1 质控描述: 试纸条上质控带(C)不出现红色条带, 结果无效, 试纸条质控, 阴性和阳性对照都正常时结果有效。

9.2 阴性结果: 试纸条上仅质控带(C)出现一条红色条带, 在检测带(T)无红色条带出现, 则判定“未检出李斯特氏菌”。

9.3 可疑阳性结果: 试纸条上出现两条红色条带, 一条是检测带(T), 另一条为质控带(C), 则判断结果为可疑阳性。

10 报告方法

10.1 胶体金检测为阴性结果: 报告为“未检出李斯特氏菌/25 g(25 mL)”。

10.2 胶体金检测为可疑阳性结果: 用 FB₂ 增菌液按 SN/T 0184.1 进行分离培养、鉴定检测, 并根据检测结果作报告。

11 检测灵敏度

本方法检测灵敏度可达到 10⁶ CFU/mL。

12 生物安全

李斯特氏菌属中单核细胞增生李斯特氏菌为生物安全二级病原微生物。微生物检测实验室的工作人员对该菌进行检验时, 应遵守 GB 19489 中关于实验室生物安全防护的要求。易被其感染的婴幼儿、虚弱者、年长老人、免疫缺陷者应远离单核增生李斯特氏菌分离、鉴定和确认的试验场所。

附录 A
(规范性附录)

Fraser 肉汤增菌液(FB₁, FB₂)

A.1 成分

酪蛋白酶消化液	5.0 g
动物组织酶消化液	5.0 g
牛肉浸膏	5.0 g
酵母浸膏	5.0 g
氯化钠	20.0 g
磷酸氢二钠	12.0 g
磷酸二氢钠	1.35 g
七叶苷	1.0 g
氯化锂	3.0 g
蒸馏水	1 000 mL

A.2 制法

A.2.1 总体要求

将上述成分置于 50 ℃ 水浴中充分溶解,冷却后调 pH 至 7.0~7.4,分装,121 ℃ 灭菌 15 min。

A.2.2 盐酸吡啶黄溶液

盐酸吡啶黄	25 mg
灭菌蒸馏水	10 mL

振摇混匀,充分溶解后过滤除菌,避光保存。

A.2.3 萘啶酮酸钠盐溶液

萘啶酮酸	20 mg
0.05 mol/L 氢氧化钠溶液	10 mL

振摇混匀,充分溶解后过滤除菌。

A.2.4 0.05 mol/L 氢氧化钠溶液

氢氧化钠	0.1 g
灭菌蒸馏水	50 mL

振摇混匀,充分溶解。

A.2.5 柠檬酸铁铵溶液

柠檬酸铁铵	0.5 g
灭菌蒸馏水	10 mL

振摇混匀,充分溶解后过滤除菌。

A.2.6 Fraser 肉汤 I (FB₁) 1 000 mL 中加入:

盐酸吡啶黄溶液	5 mL
萘啶酮酸钠盐溶液	5 mL
柠檬酸铁铵溶液	10 mL

A.2.7 Fraser 肉汤 II (FB₂) 1 000 mL 中加入：

盐酸吡啶黄溶液 10 mL

茶淀酮酸钠盐溶液 10 mL

无菌分装于 10 mL 大试管中。

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准

食品中李斯特氏菌检测

第 4 部分:胶体金法

SN/T 0184.4—2010

*

中国标准出版社出版
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 10 千字

2010年10月第一版 2010年10月第一次印刷

印数 1—1 600

*

书号: 155066·2-21133 定价 16.00 元



SN/T 0184.4—2010